



**Набор реагентов для полуавтоматического выделения ДНК из
цельной крови
«Blood Auto Pure»**

#bloodAtest-16 #bloodA-96 #bloodA-192

Набор реагентов предназначен для полуавтоматического выделения ДНК из цельной крови методом сорбции на магнитных частицах с использованием автоматической станции Allsheng «Auto-Pure 96/48/24». В набор включены все необходимые реагенты для выделения ДНК:

1. Лизирующий буфер – на основе хаотропных агентов и вспомогательных компонентов для оптимального лизиса;
2. Связывающий буфер – для сорбции НК на магнитных частицах;
3. Промывочный буфер 1 – для промывки нуклеиновых кислот от клеточных метаболитов и солей;
4. Промывочный буфер 2 – для промывки нуклеиновых кислот от клеточных метаболитов и солей;
5. Промывочный буфер 3 – для промывки нуклеиновых кислот от клеточных метаболитов и солей;
6. Элюирующий буфер – для элюции и хранения НК, pH=8,9;
7. Протеиназа К – для более быстрого и полного лизиса;
8. Магнитные частицы – для сорбции НК.

Буферы набора «**Blood Auto Pure**» могут храниться при температуре от +4°C до +25°C в течение 12 месяцев с даты выпуска изготовителя. В случае наличия осадка при минимальных температурах хранения растворы следует нагреть до комнатной температуры.

Магнитные частицы могут храниться при температуре от +4°C до +25°C в течение 12 месяцев с даты выпуска изготовителя. Перед применением суспензию частиц необходимо тщательно взбалтывать до однородного состояния.

Фермент **Протеиназа К** необходимо хранить при -20°C, срок хранения составляет 12 месяцев. Допускается кратковременное повышение температуры хранения (транспортировки) от +4°C до +25°C не более 5 суток.

Необходимые материалы и оборудование: автоматическая станция Allsheng «Auto-Pure 96/48/24», автоматические одно- или многоканальные дозаторы переменного объема на 20-200 мкл, 100-1000 мкл и соответствующие одноразовые наконечники; планшеты глубоколоночные на 96 лунок с юбкой, с U- или V-образным дном; гребенки для глубоколоночных планшетов на 96 лунок; ванночки для реагентов; магнитный штатив, совместимый с глубоколоночными планшетами.

Примечание: к использованию рекомендуются гребенки и глубоколоночные планшеты производителя Yong Yue Medical Technology (Kunshan) Co., Ltd (артикул гребенки: YMC-96, артикулы планшетов: YDP-96-2.2-SC и YDP-96-2.2-SU-N).

Blood Auto Pure

Проведение процедуры выделения ДНК

Установка программы

1. Перенести файлы .txt «LysBloodA» (программа для лизиса) и «SorBloodA» (программа для сорбции и последующих этапов) на флэш-накопитель в предварительно созданную папку с названием «Items». Программы доступны по QR-коду в Приложении 1 (Рисунок 1).
2. Вставить флэш-накопитель в прибор и зайти во вкладку Настройки.
3. Нажать на вкладку Импорт/Экспорт и выбрать кнопку Импорт.
4. Отметить зеленой галочкой программы «LysBloodA» и «SorBloodA» и нажать на кнопку Импорт.
5. Проверить наличие вышеуказанных программ во вкладке «Вып.Прог.», что будет означать успешную загрузку.

Подготовка реагентов

1. Подготовить и подписать 8 глубоколоночных планшетов:
Планшет 1 – для установки гребенки и сброса;
Планшет 2 – для этапа лизиса и связывания;
Планшет 3 – для магнитных частиц;
Планшет 4 – для промывочного буфера 1;
Планшет 5 – для промывочного буфера 1;
Планшет 6 – для промывочного буфера 2;
Планшет 7 – для промывочного буфера 3;
Планшет 8 – для элюирующего буфера.
2. В планшет 1 установить гребенку.
3. В планшет 3 добавить по 40 мкл магнитных частиц в каждую лунку.
4. В планшет 4 добавить по 900 мкл промывочного буфера 1 в каждую лунку.
5. В планшет 5 добавить по 700 мкл промывочного буфера 1 в каждую лунку.
6. В планшет 6 добавить по 700 мкл промывочного буфера 2 в каждую лунку.
7. В планшет 7 добавить по 700 мкл промывочного буфера 3 в каждую лунку.
1. В планшет 8 добавить по 100 мкл элюирующего буфера в каждую лунку.

Подготовка к лизису

1. а. При полном запуске планшета на 96 образцов:
 - 1) Перенести весь объем протеиназы К в лизирующий буфер, тщательно перемешать получившуюся смесь.
 - 2) В каждую лунку планшета 2 внести 230 мкл смеси лизирующего буфера с протеиназой К, затем добавить в лунки по 200 мкл цельной крови.

Примечание: Смесь лизирующего буфера и протеиназы К хранится не более суток при температуре от +2°C до +8°C.

- б. При неполном запуске:

В лунки планшета 2 внести 200 мкл лизирующего буфера и 30 мкл протеиназы К, затем добавить в лунки по 200 мкл цельной крови.

Запуск прибора

1. Установить планшеты 1-8 в прибор согласно схеме в Приложении 1 (Рисунок 2), следуя обозначениям на приборе и используя кнопки для поворота платформы.
2. Открыть вкладку «Вып.Прог.», выбрать программу «LysBloodA» и нажать кнопку «Пуск».
3. После завершения программы, извлечь планшет 2 из прибора и внести 600 мкл связывающего буфера в каждую лунку.
4. Установить планшет 2 в прибор, выбрать во вкладке «Вып.Прог.» программу «SorBloodA» и нажать кнопку «Пуск».
5. После окончания программы выделения извлечь планшет 8 из прибора.
6. Установить планшет 8 на магнитный штатив, либо центрифугировать его на максимальной скорости для удаления остаточного количества магнитных частиц.
7. Перенести элюат в новый планшет или пробирки объемом 1,5-2 мл.

Полученные растворы нуклеиновых кислот могут храниться до 7 дней при температуре от +2°C до +4°C и до двух лет при температуре -20°C. По соотношению показателей поглощения A260/A280 чистота полученного раствора ДНК соответствует $\geq 1,7$.

Важно! Некоторые образцы при высокой концентрации ДНК (более 200 нг/мкл) могут иметь легкий желтовато-красноватый оттенок, при этом показатели A260/A280 $\geq 1,8$. Такие образцы не ингибируют последующие реакции, такие как ПЦР, ферментативная подготовка полногеномных библиотек и пр.